

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
GEOTEHNIČKI FAKULTET

VALENTINA HEREGA

PRAĆENJE ONEČIŠĆENJA TLA I PODZEMNE VODE  
ARSENOM IZ OTPADNOG MATERIJALA  
PERADARSKIH FARMI

DIPLOMSKI RAD

VARAŽDIN, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
GEOTEHNIČKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

PRAĆENJE ONEČIŠĆENJA TLA I PODZEMNE VODE  
ARSENOM IZ OTPADNOG MATERIJALA  
PERADARSKIH FARMI

KANDIDAT :

Valentina Herega

MENTOR :

doc.dr.sc. Jelena Loborec

NEPOSREDNI VODITELJ:

dr.sc. Dragana Dogančić

VARAŽDIN, 2018.

**AUTOR:** Valentina Herega

**NASLOV RADA:** Praćenje onečišćenja tla i podzemne vode arsenom iz otpada peradarskih farma

## **SAŽETAK**

Poljoprivreda ima snažan utjecaj na okoliš u smislu potencijalnog onečišćenja tla i vode. Peradarska proizvodnja je značajna grana stočarske proizvodnje u Republici Hrvatskoj te se radi povećane potrebe za proizvodnjom hrane stalno intenzivira proizvodni proces, što podrazumijeva razne manipulacije kako bi se postigao što veći prinos. Tema ovog diplomskog rada je ispitati prisutnost arsena u okolišu kao izravnu posljedicu odlaganja otpada peradarskih farma. Naime, uočen je trend povećanja koncentracije arsena u tlu, što se dovodi u vezu s korištenjem roxarsona, najpoznatijeg promotora rasta te sredstva za pigmentaciju mesa u peradarskoj industriji, a koji sadrži arsen. U novije vrijeme stavlja se naglasak na istraživanja posljedica njegovog korištenja. U ovom je radu obavljeno ispitivanje sadržaja arsena u tlu na jednom dijelu Varaždinske županije u neposrednoj blizini peradarske farme. Lokacije uzorkovanja izabrane su kako bi se sva ispitivanja obavila na istom tipu tla te kako bi se razlika u sadržaju arsena mogla tumačiti i odgovarati različitim stupnjevima opterećenja otpadom s farme, tj. pilećim gnojem.

**Ključne riječi:** arsen, roxarson, peradarska farma, nitratni dušik

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. OBILJEŽJA ISTRAŽIVANOG PROSTORA.....	3
3. OPĆI DIO .....	5
3.1. Farmaceutici.....	5
3.2. Roxarson .....	5
3.2.1. Povijest roxarsona.....	6
3.2.2. Kružni ciklus roxarsona .....	7
3.3. Arsen .....	8
3.4. Kružni ciklus dušika u prirodi .....	9
4. METODOLOGIJA .....	12
4.1. Uzorkovanje.....	12
4.2. Laboratorijska obrada uzorka .....	13
4.3. Mjerenje pH u vodenom eluatu (pH <sub>V</sub> ) .....	14
4.4. Mjerenje izmjenjive kiselosti (pH <sub>KCl</sub> ).....	14
4.5. Mjerenje aniona u tlu .....	15
4.5.1. Nitrati .....	15
4.5.2. Nitriti.....	16
4.5.3. Amonijak .....	16
4.6. Mjerenje otopljenog organskog ugljika (DOC) .....	16
4.7. Ekstrakcija arsena zlatotopkom .....	17
4.8. Atomska apsorpcijska spektrometrija (AAS) .....	18
5. REZULTATI I RASPRAVA.....	20
5.1. pH tla.....	20
5.2. Amonijak (NH <sub>3</sub> ), nitrati (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ), nitriti (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ).....	23
5.3. Otopljeni organski ugljik (DOC) .....	26
5.5. Arsen .....	27
6. ZAKLJUČAK.....	30
7. LITERATURA .....	32
8. POPIS SLIKA, TABLICA I DIJAGRAMA.....	36

## 1. UVOD

Posljednjih nekoliko godina, prema Statističkom ljetopisu Republike Hrvatske iz 2017. godine meso peradi zauzima vodeće mjesto u potrošnji svih vrsta mesa [1]. Posljedica je to raznih čimbenika, između ostalog, kratkog trajanja tova, izvrsno iskorištenog prostora za uzgoj, velike reproduksijske mogućnosti peradi, nutritivne vrijednosti mesa te svakako relativno niske prodajne cijene pilećeg mesa.

Opće je poznato da se utjecaj poljoprivrede na okoliš očituje u onečišćenju tla, vode i zraka. Danas se zbog rastućih potreba za hranom intenzivira proizvodnja u svrhu povećanja prinosa što dovodi do sve većeg opterećenja okoliša. Obično se smatra da u intenzivnom uzgoju tov pilića traje do 42 dana. Usporedbe radi, kada se pilići uzgajaju za vlastite potrebe vremenski period je oko dva mjeseca i duže. Zbog potrebe za brzim tovom pilića za klanje, hrana mora biti bogata krmivima, kao što su ugljikohidrati, masti, bjelancevine, vitamini i mineralne tvari [2]. No, s druge pak strane, pri uzgoju životinja na industrijaliziranim farmama, kao promotor rasta koriste se antibiotici i drugi veterinarski lijekovi zbog kojih se kasnije u hrani životinjskog podrijetla pojavljuju ostaci farmakoloških tvari za koje postoji sumnja ili je dokazano da su u određenoj mjeri škodljivi po ljudsko zdravlje [3]. Isto tako, intenzivna uporaba farmaceutika predstavlja sve veće opterećenje na okoliš.

U Varaždinskoj županiji postoji mnogo peradarskih farmi koje proizvode puno peradarskog otpada. U Republici Hrvatskoj na gnoj peradi otpada svega oko 3 % ukupno proizvedenog gnoja, a u Varaždinskoj županiji preko 15 % [4]. Gnoj u sebi sadrži velike koncentracije dušika i zbog toga se zbrinjava na način da se razvozi na poljoprivredne površine i koristi u proizvodnji hrane kao korisna sirovina. Gnoj također može sadržavati i druge štetne tvari pa tako i arsen ukoliko perad konzumira roxarson ili druge spojeve bogate arsenom. Predmet ispitivanja u ovom radu je arsen koji je sadržan u promotoru rasta roxarsonu koji se u velikim količinama koristio u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD) i u Europi.

U lipnju 2011. godine na zahtjev Američke agencije za hranu i lijekove (FDA), farmaceutska industrija Pfizer obustavila je prodaju lijeka 3-Nitro, poznatog i kao roxarson na području SAD-a [5], ali je i dalje nastavila prodavati Histostat sve do 2015. godine. Histostat je poznat i kao nitarson, a po kemijskom sastavu je sličan roxarsonu.

Trenutno je u razvijenim zemljama primjena organoarsenika u stočarskoj industriji zabranjena, ali se posljedice njihovog korištenja danas mogu detektirati u tlu i vodama kemijskim metodama poput tekućinske kromatografije i spektrometrije masa.

Cilj ovog rada je usmjeren na ispitivanje onečišćenja tla arsenom iz otpadnog materijala peradarskih farmi na području Varaždinske županije.

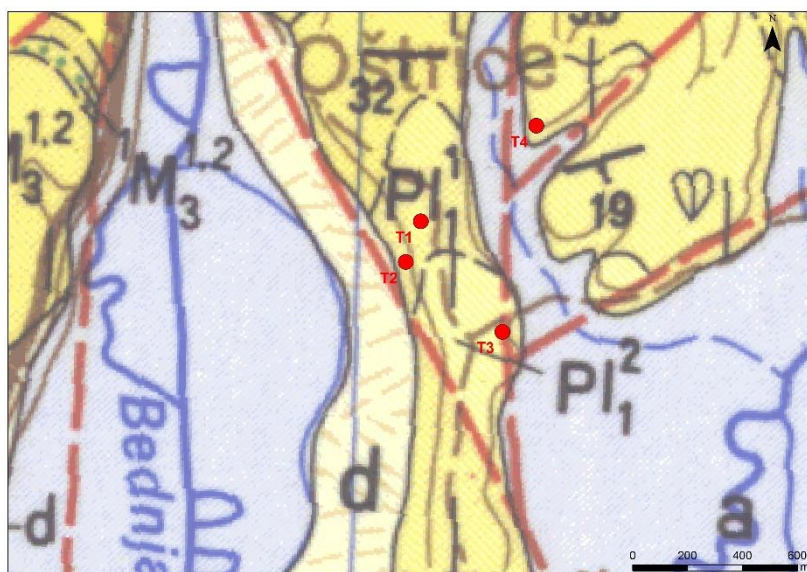
## 2. OBILJEŽJA ISTRAŽIVANOG PROSTORA

Varaždinska županija prostire se na sjeverozapadnom dijelu Republike Hrvatske (Slika 1), graniči s Međimurskom županijom na sjeveru, Koprivničko-križevačkom na istoku, Krapinsko-zagorskom županijom na jugu te s Republikom Slovenijom na zapadu. Prostire se između rijeke Drave na sjeveru, obronaka Slovenskih gorica i gore Macelj na zapadu te Kalnika i njegovih obronaka na istoku i jugoistoku. Istraživano područje nalazi se u blizini rijeke Bednje, u naselju Ključ kojeg okružuju mnoga poljoprivredna zemljišta (Slika 1).



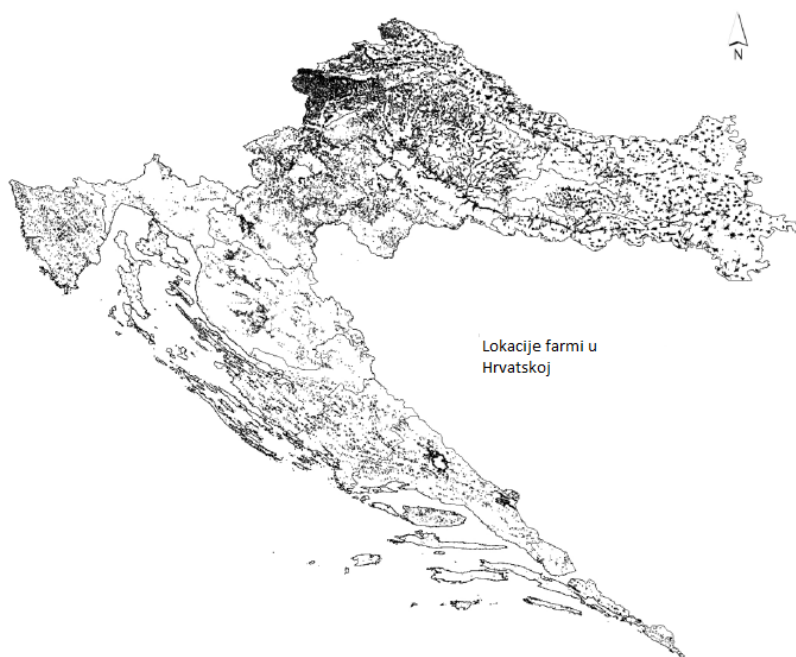
Slika 1: Položaj Varaždinske županije u RH te topografska karta županije sa naznačenim područjem istraživanja

Uzorci se nalaze u zoni donjeg pontaa gdje su zastupljeni pretežno dobro uslojeni pjeskoviti lapori i slabo vezani siliti unutar kojih se zapažaju proslojci pijeska i pješčenjaka (Slika 2). Boja sedimenta je žućkastosiva, siva i smeđa [6].



Slika 2: Geološka karta istraživanog područja

U Varaždinskoj županiji najviše registriranih farmi pripada farmama za svinje i odmah nakon njih slijede farme peradi (Slika 3). S obzirom na prostorni raspored najveći broj farmi nalazi se u kontinentalnom dijelu RH s najvećom gustoćom u sjeverozapadnom i središnjem dijelu (Slika 3). Županije s pojedinačno najvećim brojem farmi su Zagrebačka, Krapinsko-zagorska i Osječko-baranjska, zatim slijede Bjelovarsko-bilogorska, Vukovarsko-srijemska, Varaždinska i Sisačko-moslavačka županija [4].



Slika 3: Prostorni raspored farmi u RH 2012.godine [4]



### 3. OPĆI DIO

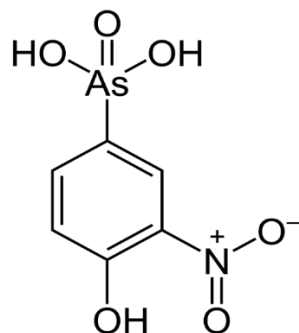
#### 3.1. Farmaceutici

Farmaceutici su spojevi koji se upotrebljavaju za liječenje ili sprječavanje bolesti ljudi i životinja te kao promotori rasta u veterinarskoj medicini, a posljedica njihove upotrebe je njihova prisutnost u okolišu [7].

Potrošnja farmaceutika za ljudsku i veterinarsku primjenu je u uzlaznoj putanji isto kao i njihovo ispuštanje u okoliš. Dvije trećine farmaceutika se koristi u veterinarske svrhe i to u vidu promotora rasta, antibiotika i antiparazitika. U okolišu završavaju zbog neadekvatne obrade komunalnih otpadnih voda, procijedih voda životinjskih farmi te putem životinjskih izlučevina (gnojiva) koje nakon odlaganja na poljoprivrednim površinama u konačnici završavaju u tlu i vodama.

#### 3.2. Roxarson

Roxarson je arsenski spoj 3-nitro-4-hidroksifenilarsonska kiselina (Slika 4). Prirodno se ne pojavljuje u tlu nego je njegovo prisustvo posljedica opsežnog korištenja u peradarskoj industriji kao promotora rasta. Danas, u zemljama u razvoju, Kini i Indiji, jedan je od najčešće korištenih organoarsenskih aditiva u hranu koji potiče rast, kontrolira crijevne parazite te ističe pigmentaciju mesa peradi.



Slika 4: Struktura kemijskog spoja roxarson

U tkivima peradi koja je konzumirala roxarson, koncentracija roxarsona kretala se oko 14-54 mg/kg, dok su u gnoju bili prisutni različiti metaboliti: arsenat (V), arsenit (III), monometilarsonska kiselina (MMAA), dimetilarsinska kiselina (DMAA), 3-amino-4-hidroksifenilarsonska kiselina i 4-hidroksifenilarsonska kiselina [8].

Najveći dio konzumiranog roxarsona izlučuje se iz pilića nepromijenjen. U uvjetima skladištenja otpada iz peradarske farme, roxarson je osjetljiv na bakterijsku degradaciju što rezultira pretvorbom u anorganski arsen [9]. Anorganski oblici arsena su najčešći u podzemnim vodama. Lako se adsorbiraju na korijenje i plodove biljaka te u konačnici dovode u pitanje sigurnost hrane, a sve to je posljedica korištenja gnoja iz peradarnika kao gnojiva za poljoprivredne površine [10].

### 3.2.1. Povijest roxarsona

1944. godine Roxarson je odobren od strane Američke agencije za hranu i lijekove (U.S Food and Drug Administration, FDA) za liječenje kokcidioze (uobičajene parazitske bolesti peradi) te za što brže postizanje željene težine i poboljšanja pigmentacije mesa. Predstavnici industrije 2010. godine procjenjuju da je 88 % pilića primilo roxarson [11]. Zbog velikih količina roxarsona koji se koristio u stočarkoj i peradarskoj industriji i potencijalnih učinaka arsena na ljude i okoliš, došlo je do povećanja interesa za ispitivanjem djelovanja roxarsona. Utvrđeno je da kronično izlaganje arsenu uzrokuje razne vrste karcinoma, kardiovaskularne bolesti, itd. [12]. FDA je 2011. godine zabilježila povećane koncentracije arsena u jetri pilića koji su bili hranjeni roxarsonom. Kako bi se smanjilo nakupljanje arsena u tkivu pilića, FDA je zahtijevala petodnevno ukidanje roxarsona prije samog klanja. Konačno, u srpnju 2011. godine kao odgovor na procjenu sigurnosti, FDA suspendira prodaju roxarsona u Sjedinjenim Američkim Državama. Međutim, uporaba roxarsona i drugih organoarsenika se nastavlja u drugim zemljama sve do veljače 2015. godine.

### 3.2.2. Kružni ciklus roxarsona

Hrana je neophodno potrebna za život svakog organizma jer osigurava unos tvari potrebnih za metabolizam. Isto tako u hrani se može naći čitav niz štetnih tvari koje mogu negativno utjecati na zdravlje ljudi i drugih organizama. Biljka koja izraste na čistom tlu pogodna je za sve uobičajene načine korištenja i bezopasna je za svakog konzumenta, no u protivnom, ukoliko je tlo onečišćeno, preko njega se može onečistiti biljka, naročito ako je onečišćivalo u tlu prisutno u kemijskom obliku u kojem ga biljka može apsorbirati. Koncentracija teških metala u biljci ovisi o vrsti biljke, koncentraciji i dostupnosti elementa u tlu, udaljenosti od izvora emisije, godišnjem dobu i vremenskim prilikama [13]. S obzirom na njihovu toksičnost, pretjerana akumulacija teških metala u biljkama može biti štetna u konačnici za konzumente.

Mikroorganizmi u tlu imaju značajan potencijal kod razgradnje roxarsona, ali isto tako nakon konzumacije roxarsona dolazi do promjene sastava i strukture mikroorganizama i smanjenja mikrobiološke raznolikosti. Neke bakterije inhibiraju roxarson dok neke imaju vrlo važnu ulogu u njegovoj razgradnji [14].

Prijenos metabolita roxarsona od tla do jestivih dijelova biljke je ključni korak pri njegovom ulasku u lanac ljudske prehrane. U Kini je redovita doza roxarsona u hrani za perad od 25 do 50 mg/kg [15]. Roxarson se kraće vrijeme zadržava u životinji i nepromijenjen se izlučuje te može degradirati u više toksičnih metabolita nakon kompostiranja. Metilirani oblici monometilarsin (MMA) i dimetilarsin (DMA) mogu uzrokovati tumore na koži, plućima, jetri, bubregu, štitnjači, mokraćnog mjehura, limfnih čvorova u životinja i ljudi [16]. Isto tako, prema studijama 70-90 % arsena u gnoju peradi topivo je u vodi [17]. Životinjski gnoj se obično primjenjuje kao organsko gnojivo. Dakle, biodostupnost roxarsona i njegovih metabolita u gnoju je velika, stoga ne čudi opća zabrinutost koja je uzrokovala povlačenje roxarsona s tržišta, kao i nastavak istraživanja posljedica njegove dugogodišnje primjene.

### 3.3. Arsen

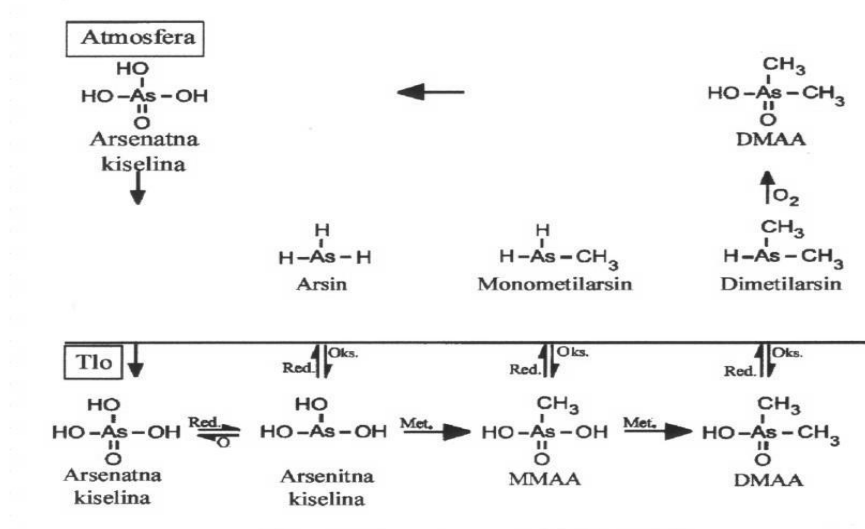
Arsen je metaloid koji se pojavljuje u različitim organskim i anorganskim oblicima. Široko je rasprostranjen u okolišu kao posljedica prirodnog i antropogenog djelovanja. U prirodi se javlja u četiri oksidacijska stanja kao arsin, arsen, arsenit i arsenat. Arsen i njegovi spojevi relativno su mobilni u okolini. Ovisno o geološkom, klimatskom i hidrološkom stanju, tlo i sedimenti, površinske vode, podzemne vode i zrak mogu biti obogaćeni arsenom [18]. Arsen može ući u prehrambeni lanac uzrokujući široku rasprostranjenost u biljnim i životinjskim vrstama.

Prosječan sadržaj arsena u nezagađenom tlu je oko 5 mg/kg [19]. Povećane koncentracije arsena registrirane su u dolinama rijeka Drave i Mure te na području između Molvi i Kalinovaca, gdje je izmjerena maksimalna koncentracija u sjevernoj Hrvatskoj. Izmjerene koncentracije arsena u tlu na širem području Podravine, kreću se između 0,5 i 92 mg/kg s vrijednošću medijana od 10 mg/kg [32] (Slika 5). U prirodi arsen se može naći čak u 245 različitih minerala (sulfida, sulfosoli, arsenida, ali i oksida, arsenita i arsenata). Toksičnost arsena ovisi o kemijskom obliku u kojem je prisutan. Anorganski arsen, arsenit As(III) i arsenat As(V), toksičniji je i češći je u odnosu na organski te se lako veže na minerale glina [8]. Specijacija anorganskog arsena ovisi o pH vrijednosti i redoks potencijalu. Arsenat i arsenit adsorbiraju se na površine različitih aluvijalnih materijala kao što su željezni oksid, aluminij oksid i minerali glina.



Slika 5: Prikaz koncentracija arsena na području Varaždina i okolice [32]

Mineralni oblici u kojima arsen može biti prisutan u tlu su 60 % arsenata i 20 % sulfida i sulfatnih soli, ostatak uključuje 20 % arsenida, arsenita, oksida, silikata i elementarnog arsena. Takvi mineralni oblici tijekom vremena trošenjem prelaze u anorganske vrste arsena topive u vodi. U vodenim otopinama arsen je prisutan u obliku oksoaniona arsenitne i arsenatne kiseline koji u anaerobnim uvjetima mogu biti metilirani bakterijama, kvascima ili gljivicama te nastaju organske komponente: monometilarsenatna kiselina (MMAA), dimetilarsenatna kiselina (DMAA) i plinoviti derivati arsina kao što su MMA, DMA i trimetilarsin (TMA) (Slika 6). U aerobnim uvjetima dolazi do oksidacije metiliranih komponenata u anorganske specije.



Slika 6: Biološke transformacije arsena u prirodi [28]

### 3.4. Kružni ciklus dušika u prirodi

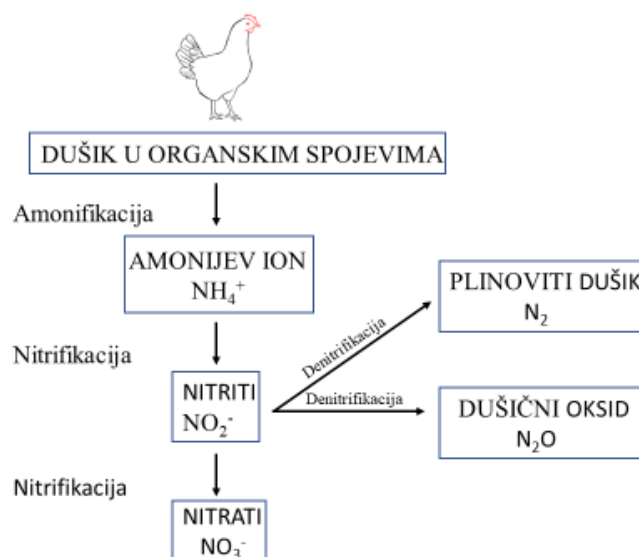
Kao što je već spomenuto, na području Varaždinske županije peradarska industrija je poprilično razvijena. Pileći gnoj koji se zbrinjava u krugu farme te se kasnije odvozi na poljoprivredne površine je također vrlo važan izvor dušika. Prekomjerna primjena gnojiva ne dovodi do dugotrajnije akumulacije dušika u tlu, pa da posluži biljkama kao hranjivo za „crne dane“, već ispiranjem poljoprivrednih površina oborinama dospijeva u površinske i podzemne vode, najčešće u obliku nitrata. Ako pak dođu u podzemnu vodu koja se koristi za piće, nitrati izravno štete zdravlju ljudi.

Većina velikih farmi novijeg datuma građene su u skladu sa zahtjevima o gradnji deponija za stajski gnoj te je tako osiguran prihvata i čuvanje gnoja tijekom najmanje 6 mjeseci kako bi gnoj „dozrio“ tj. kako bi se odvijali procesi pretvorbe dušika [4]. S druge strane, mnogo je malih i srednje velikih farmi na području Varaždinske županije koje su tržišno orijentirane, s manjom razinom proizvodnje i nižim standardima glede zbrinjavanja gnoja u odnosu na velike farme. Uglavnom su to starije farme koje gnoj odlažu u neposrednoj blizini farme na neuređena gnojišta s kojih tekući dio nesmetano odlazi u okoliš. Nakon nekog vremena kada gnoj dehidrira, koristi se za gnojidbu poljoprivrednih površina.

Kruženje dušika u prirodi (Slika 7) može se podijeliti na nekoliko odvojenih reakcija koje su međusobno povezane u ciklus. Osnova ciklusa kruženja dušika u prirodi je njegov prijelaz iz anorganskih spojeva u organske i obratno.

Raspadom organske tvari, organski spojevi dušika procesom amonifikacije transformiraju se u amonijak. Amonijev ion  $\text{NH}_4^+$  je svojim pozitivnim nabojem vezan za čestice tla, no u određenim uvjetima u tlu on može izgubiti dodatni vodikov  $\text{H}^+$  ion i prelazi u neutralni amonijak  $\text{NH}_3$  koji se zbog nedostatka električnog naboja ne veže s česticama tla. Ova pojava značajno ovisi o pH reakciji tla jer su gubici amonijaka u tlu lužnate reakcije značajno veći nego kod tla neutralne ili kisele reakcije.

Sljedeći korak je nitrifikacija u kojem amonijak preko nitrita prelazi u nitrat (Slika 7). Vršiti je specifična grupa mikroorganizama koju možemo naći i u prirodi. Nakon nitrifikacije slijedi denitrifikacija u kojem određene vrste bakterija u anoksičnim uvjetima reduciraju nitratni dušik do plinovitih oblika dušika  $\text{N}_2$ ,  $\text{NO}$  i  $\text{N}_2\text{O}$  koji otplinjavaju u atmosferu.



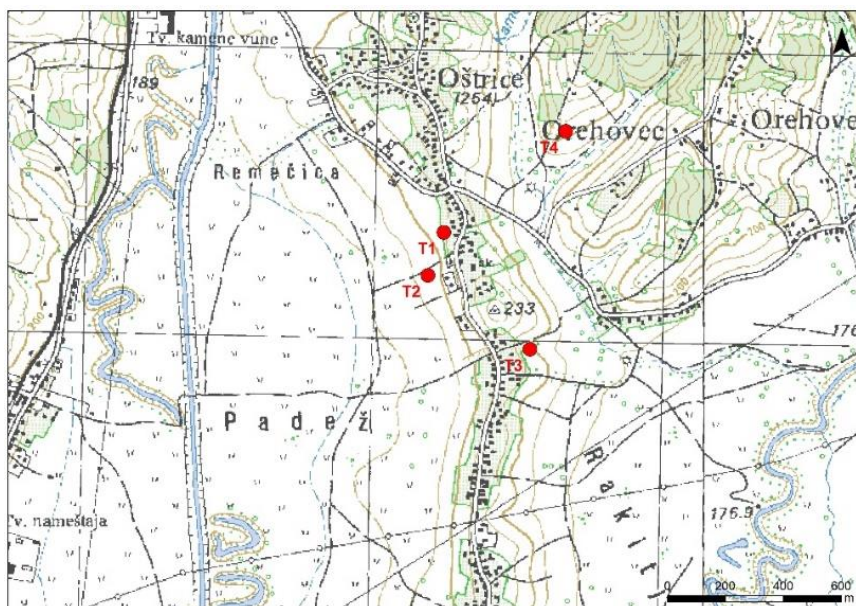
Slika 7: Prikaz kruženja dušika u prirodi prema Madison, R. & Brunett, J. [29]

Kao prehrambeni aditivi, nitrati i nitriti imaju široku primjenu i u mesnoj industriji jer poboljšavaju kvalitetu, trajnost i sigurnost proizvoda, posebice zbog inhibicije rasta i razmnožavanja bakterija. Nitrati sami po sebi pokazuju vrlo malo toksično djelovanje za ljudski organizam, no njegovi metaboliti i produkti reakcija (npr. nitrozoamini) u probavnim organima mogu predstavljati opasnost za zdravlje.

## 4. METODOLOGIJA

### 4.1. Uzorkovanje

Za istraživanje sakupljeno je 5 uzoraka na području Varaždinske županije (Slika 8). Prvi uzorak tla (T1) uzet je na livadi koja nije nikada gnojena pilećim gnojem te predstavlja svojevrsno nultu stanje. Drugi uzorak (T2) uzet je sa farme, izravno ispod odlagališta otpadnog materijala. Farma je nešto starijeg datuma i nema uređen deponij za stajski gnoj, već se gnoj odlaže u neposrednoj blizini farme na neuređena gnojišta. Treći uzorak (T3) je s vrta koji je kroz više godina redovito gnojen gnojem obližnje farme. Četvrti uzorak (T4) uzet je s oranice na kojoj je gnoj skladišten u mirovanju minimalno dvije godine. Peti uzorak je čisti pileći gnoj s hrpe koja je mirovala (T5).



Slika 8: Topografska karta istraživanog područja s označenim lokacijama uzorkovanja

Uzorci su uzimani lopatom na dubini 0-30 cm nakon uklanjanja vegetacije i organskog sloja (Slika 9). Nakon uzorkovanja, uzorci su transportirani u Laboratorij za geokemiju okoliša Geotehničkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu, u Varaždinu.





Slika 9: Primjer uzorkovanja tla

## 4.2. Laboratorijska obrada uzorka

Tijekom pripreme uzoraka za analizu, uzorci tla su osušeni na zraku kako bi se spriječio gubitak lakohlapljivih elemenata. Tako osušeni uzorci su usitnjeni tarionikom i batićem (Slika 10) te su prosijani kroz sita veličine otvora 2 mm kako bi se dobila frakcija manja od 2 mm. Na tako pripremljenim uzorcima izvršene su za analize  $\text{pH}_v$ ,  $\text{pH}_{\text{KCl}}$ , otopljenog organskog ugljika (DOC), aniona u tlu (nitrita, nitrata i amonijaka) te arsena.



Slika 10: Usitnjavanje uzorka pomoću tarionika i tučka

### 4.3. Mjerenje pH u vodenom eluatu (pH<sub>V</sub>)

pH vrijednost je izmjerena u vodenom eluatu uzorka tla (pH<sub>V</sub>). U staklene čaše stavljeno je 5 ml zrakosuhog tla i dodano 25 mL deionizirane vode. Uzorci su orbitalnom miješalicom KS130 tvrtke IKA miješani sat vremena na brzini od 240 okretaja u sekundi te je izmjerena pH<sub>V</sub> vrijednost tla (Slika 11). Mjerenje vrijednosti pH izmjereno je multimetrom tvrtke Sension156 (Slika 12). Prije mjerenja multimetar je kalibriran standardnim pufer-otopinama vrijednosti pH 4.0 i 7.0 tvrtke Merck.

### 4.4. Mjerenje izmjenjive kiselosti (pH<sub>KCl</sub>)

Za mjerenje pH<sub>KCl</sub> pripremljena je 1 M otopina KCl tako da je 74,56 g KCl otopljeno u 1000 mL deionizirane vode. U staklenu čašu dodano je 5 mL zrakosuhog tla i 25 mL 1 M KCl. Uzorci su također, istovremeno miješani sat vremena orbitalnom miješalicom na brzini od 240 okretaja u sekundi (Slika 11). Mjerenje multimetrom provedeno je na isti način kao i mjerenje pH<sub>V</sub>.



Slika 11: Mješanje uzoraka orbitalnom miješalicom



Slika 12: Mjerenje uzoraka multimetrom

## 4.5. Mjerenje aniona u tlu

Za određivanje aniona u tlu pripremljeni su vodeni eluati. U Erlenmayerovu tikvicu stavljeno je 50 g tla i 125 ml deionizirane vode. Uzorci su dva sata mješani orbitalnom mješalicom. Zatim su centrifugirani u Centric 322A tvrtke Tehnica (Slika 13) na 3500 okretaja 15 minuta. Eluati su nakon toga profiltrirani preko Sartorius filtera promjera pora 0,45  $\mu\text{m}$  kako bi se uklonile sve čestice koje su ostale suspendirane u otopini (Slika 14). Na pripremljenim uzorcima izmjerene su koncentracije nitrata, nitrita, amonijaka na spektrofotometru DR 5000 tvrtke Hach LANGE te je izmjeren otopljeni organski ugljik na TOC/TN uređaju tvrtke SHIMADZU.



Slika 13: Centrifuga 322 tvrtke Tehnica



Slika 14: Filtracija eluata preko filter papira promjera pora 0,45  $\mu\text{m}$

### 4.5.1. Nitrati

Vodeni eluat uzorka tla stavljen je u reagens bočicu te mu je dodan praškasti reagens NitraVer 5. Kadmij iz reagensa reducira nitrata do nitrita koji u kiselom mediju reagiraju sa sulfanilinskom kiselinom te nastaje diazonijeva sol. Ona se spaja sa gentizinskom kiselinom te nastaje karakteristično jantarno obojenje. Rezultati su dobiveni mjerenjem pri valnoj duljini od 500 nm.

#### 4.5.2. Nitriti

Vodeni eluat uzorka tla stavljen je u reagens bočicu te mu je dodan praškasti reagens NitriVer3. Nitriti u uzorku reagiraju sa sulfanilinskom kiselinom te nastaje diazonijeva sol. Ona reagira sa kromotropnom kiselinom i nastaje kompleks ružičaste boje čija je koncentracija proporcionalna koncentraciji nitrita u uzorku. Rezultati su dobiveni mjerenjem pri 507 nm.

#### 4.5.3. Amonijak

U reagens bočicu stavljen je vodeni eluat uzorka tla te mu je dodan reagens Ammonia Salicylate Powder Pillow. Nakon isteka reakcijskog vremena, dodan je i Ammonia Cyanurate Reagent Powder Pillow. Komponente amonijaka reagiraju sa klorom i nastaje monokloramin koji u reakciji sa salicilatom stvara 5-aminosalicilat. U prisutnosti katalizatora 5-aminosalicilat se oksidira do natrijevog nitroprusida i nastaje plavo obojenje. Plava boja je maskirana žutom bojom reagensa u suvišku što rezultira zeleno obojenom otopinom. Rezultati su dobiveni mjerenjem pri valnoj duljini 655 nm.

### 4.6. Mjerenje otopljenog organskog ugljika (DOC)

Ukupni otopljeni ugljik (DOC) analiziran je na uređajem TOC Shimadzu / TOC-V cpn. Uzorak se nakon predtretmana ubrizgava u kivetu za oksidaciju/spaljivanje koja ga zagrijava na 680°C. U kiveti uzorak prelazi u ugljik-dioksid koji se nakon odvlaživanja i hlađenja prenosi strujom pročišćenog zraka (130 mL/min) do IR detektora. Nakon usporedbe sa signalom standardnog uzorka uređaj određuje koncentraciju otopljenog organskog ugljika u vodenom eluatu tla [20].



Slika 15: TOC/TN analizator tvrtke SHIMADZU

#### 4.7. Ekstrakcija arsena zlatotopkom

U čašu od 50 mL odvuđeno je 2 g usitnjenog i prosijanog zrakosuhog uzorka tla te je uzorku dodana zlatotopka u omjeru  $\text{HCl} : \text{HNO}_3 = 3:1$ , točnije 5 mL dušične kiseline ( $\text{HNO}_3$ ) i 15 mL klorovodične kiseline ( $\text{HCl}$ ). Staklene čaše su zatvorene parafilmom i uzorci su digerirani u vodenoj kupelji na temperaturi 50 °C 6 sati (Slika 16). Nakon hlađenja uzorci su profiltrirani i razrijeđeni deioniziranom vodom do 50 mL (Slika 17).

Budući da prema podatku iz Geokemijskog atlasa Hrvatske ekstraktibilnost arsena zlatotopkom iznosi visokih 96,3 % to je primjerena metoda dobivanja ukupne koncentracije arsena u uzorcima tla i gnoja [32].

Na ovako pripremljenim uzorcima izmjerene su koncentracije arsena atomskim apsorpcijskom spektrometru AAnalyst 800 tvrtke PERKIN ELMER (Slika 18).





Slika 16: Digeriranje uzorka u vodenoj kupelji

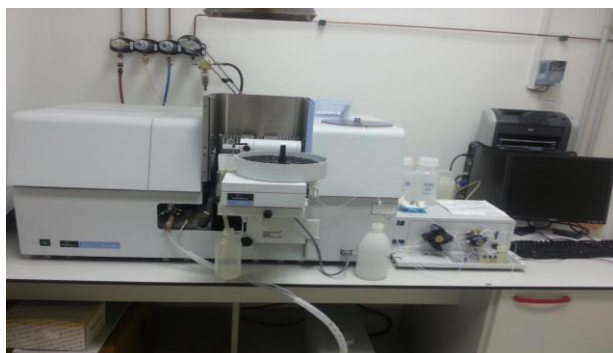


Slika 17: Profiltrirani uzorci

#### 4.8. Atomska apsorpcijska spektrometrija (AAS)

Atomska apsorpcijska spektrometrija (AAS) je analitička tehnika kojom se mjeri koncentracija elemenata u uzorku. Atomska spektrometrija je tehnika koja se primjenjuje za kvantitativno i kvalitativno određivanje više od 70-ak elemenata te se bazira na atomizaciji uzorka, odnosno isparavanju i razgrađivanju uzorka uz nastajanje atomske pare uzorka. Osjetljivost atomskih metoda mjeri se u mg,  $\mu\text{g}$ , ng (ppt, ppm, ppb).

Koristi se za analizu metalnih iona u najrazličitijim uzorcima i u različitim područjima. Pa se tako primjenjuje u polju javnog zdravstva i ekologije (analiza vode, čestica u zraku), u medicini, farmaciji, u industriji hrane i poljoprivredi (analiza hrane, aditiva u hrani, životinjskih i biljnih tkiva, tla, gnojiva) u petrokemijskoj, metalnoj industriji, metalurgiji, u analizi kozmetičkih proizvoda i za mnoge druge analize.



Slika 18: Atomski emisijski spektrometar, Aanalyst 800 tvrtke PERKIN ELMER

Postoji nekoliko tehnika za određivanje metala i metaloida u različitim vrstama uzoraka. To su: plamena (engl. *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*, FAAS), grafitna (engl. *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*, GFAAS) i hidridna FIAS. Za određivanje arsena korištena je grafitna tehnika.

Mali volumen otopine uzorka kvantitativno se unosi kroz suženi otvor u grafitnu pećnicu gdje se atomi pobuđuju zagrijavanjem na temperature od 2500 do 2700°C. Postupak se sastoji od sušenja, pougljavanja (charring), pepeljenja (ashing), atomiziranja i čišćenja (clean-out). Jednom kad je uzorak unešen i pokrenut program peći, cijeli proces je automatiziran. Zsigurno jedna od najvećih prednosti grafitne tehnike je njena široka primjenjivost. S druge strane, nedostaci grafitne tehnike su duže vrijeme i viša cijena analize [21].

Prije samog snimanja uzorka, uređaj je kalibriran standardnim otopinama poznatih koncentracija. Standardi su pripremljeni razrjeđivanjem certificirane referentne otopine koncentracije 1000 mg/L As proizvođača Perkin Elmer uz dodatak 0,1 % Pd + 0,06 % Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> kao matriks modifikatora. Za sve analize korištena je deionizirana voda (0,05 μS/cm, pH 6.9, Direct-Q3, Millipore, USA). Svi standardi i uzorci snimani su 3 puta te je rezultat izražen kao srednja vrijednost 3 mjerenja.

## 5. REZULTATI I RASPRAVA

### 5.1. pH tla

Vrijednost pH tla predstavlja negativan logaritam koncentracije vodikovih iona u uzorku. Vrijednost koncentracije iona u uzorku ovisi o raznim procesima u tlu poput sorpcije, precipitacije, hidrolize te redukcijsko-oksidacijskih procesa. Poznavanje pH vrijednosti tla veoma je bitno prilikom određivanja glavnih karakteristika tla budući da pH vrijednost tla utječe na topljivost i dostupnost mnogih elemenata kao i na mikrobnu aktivnost. Osim toga, poznavanje pH vrijednosti tla daje uvid u kemijske procese koji se odvijaju u tlu (Tablica 1).

Tablica 1 : Utjecaj pH reakcije tla na kemijske procese u tlu [22]

pH tla	Kemijski procesi u tlu
2,0 - 4,0	oksidacija pirita i redukcija sulfidnih minerala; otapanje minerala
4,0 - 5,5	taloženje aluminijevih soli
5,5 - 6,8	izmjena kationa
6,8 - 7,2	adsorpcijski kompleks tla (organska tvar i minerali)
7,2 - 8,5	taloženje Ca i Mg karbonata
8,5 - 10,5	Otapanje krutog $\text{Na}_2\text{CO}_3$

Stupanj kiselosti utječe na fizikalna, kemijska i biološka svojstva tla, odnosno na kemijsko trošenje minerala, tvorbu sekundarnih minerala, proces humifikacije, pokretljivost hranjivih tvari, aktiviranje ekološki aktivnih elemenata [22].

Reakcija tla može biti kisela, neutralna ili alkalna i neobično je važna za procese u tlu, posebno za iskoristivost hranjivih kemijskih elemenata (Tablica 2).



Tablica 2: Klasifikacija tla prema Thunu [27]

$\text{pH}_{\text{KCl}}$	
< 4,5	jako kiselo tlo
4,5-5,5	kiselo tlo
5,5-6,5	slabo kiselo tlo
6,5-7,2	neutralno tlo
> 7,2	alkalno tlo

Prema porijeklu vodikovih iona ukupna pH reakcija može se razvrstati u dvije kategorije:

- Aktivna kiselost ili aktualna pH reakcija
- Potencijalna kiselost ili izmjenjiva pH reakcija tla

Pod aktivnom kiselosti podrazumijeva se suma kiselosti u vodi topljivih kiselina i kiselih soli tla, a pod potencijalnom kiselosti smatra se suma vodikovih iona sorbiranih na površini adsorpcijskog kompleksa kao i njegova sposobnost da slabe baze tog kompleksa zamjenjuje za katione neutralnih soli i soli jakih baza i slabih kiselina.

Aktivna kiselost određuje se u vodenoj suspenziji tla, dok se potencijalna u suspenziji tla u 1 M KCl ili 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  [22].

U vodenoj suspenziji tla određuju se slobodni ioni, najviše  $\text{H}^+$  i  $\text{OH}^-$  koji su se oslobodili s adsorpcijskog kompleksa uslijed zamjene s različitim topljivim anorganskim i organskim kiselinama te solima slabih baza i jakih kiselina. Dodavanjem otopine KCl tlu određuju se ne samo slobodni  $\text{H}^+$  ioni, nego i  $\text{H}^+$  ioni vezani za adsorpcijski kompleks u tlu koji se istiskuju s  $\text{K}^+$  ionima i na taj način potencijalna kiselost daje neposredan uvid u stanje adsorpcijskog kompleksa.

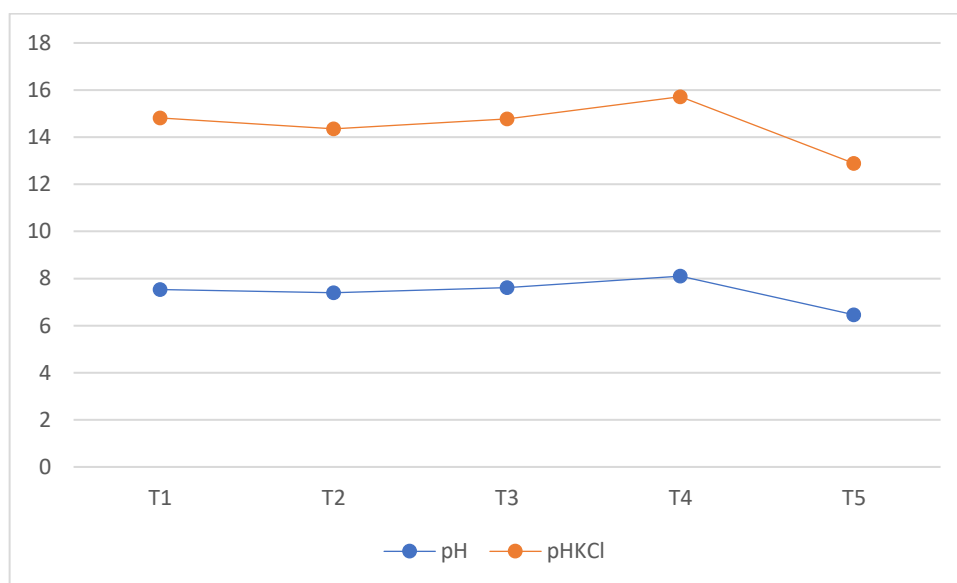
Izmjerene  $pH_v$  vrijednosti uzoraka variraju u rasponu od 7,40 do 8,10. Vrijednosti izmjenjive kiselosti  $pH_{KCl}$  kreću se u rasponu od 6,46 do 7,62 kao što je vidljivo u tablici 3. Prema Thunu [27] tla su blago alkalna što znači da su uvjeti povoljni za taloženje karbonata Mg i Ca kao što možemo vidjeti u tablici 1. Uzorak gnoja T5 ima pH vrijednost 6,46 što je unutar literaturnih vrijednosti za pileći gnoj (6-8) [35].

Na temelju izmjerenih vrijednosti  $pH_v$  i  $pH_{KCl}$  izračunati je tzv. „efekt soli“ prema izrazu:

$$\Delta pH = pH_{KCl} - pH_v$$

Pozitivne vrijednosti  $\Delta pH$  predstavljaju sredinu s pozitivno nabijenim česticama i koloidima, dok negativne vrijednosti predstavljaju sredinu s negativno nabijenim česticama i koloidima.

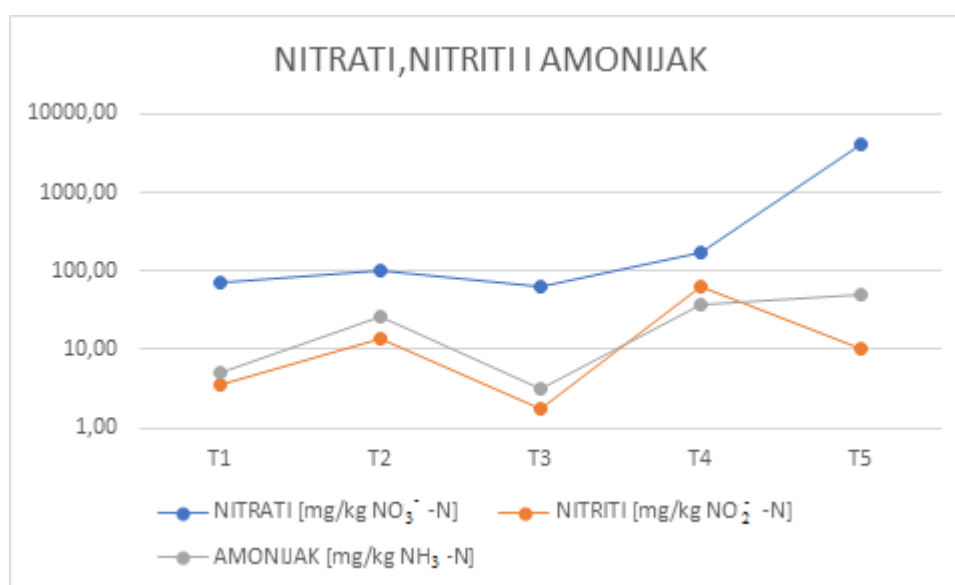
Ispitivani uzorci tla na dijelu Varaždinske županije pokazuju negativnu vrijednost  $\Delta pH$  (Prilog 1), što znači da u tlu prevladavaju negativno nabijene čestice koje imaju dobar kapacitet vezivanja pozitivnih iona kao što je npr.  $NH_4^+$ .



Dijagram 1:  $pH_v$  i  $pH_{KCl}$  vrijednosti uzoraka vodenog eluata tla

## 5.2. Amonijak ( $\text{NH}_3$ ), nitrati ( $\text{NO}_3^-$ ), nitriti ( $\text{NO}_2^-$ )

Danas je u konvencionalnoj poljoprivredi nitratni dušik imperativ za uspjeh i visoke prinose. Međutim, zbog povećane upotrebe umjetnih i mineralnih gnojiva, odlaganja otpada životinjskog porijekla te intenzivnije poljoprivredne proizvodnje u okoliš svake godine dospije velika količina nitratnog dušika. Zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava i štetnosti za ljudski organizam postao je veliki problem većini europskih zemalja. U zadnjih nekoliko godina nitratni dušik je postao predmet istraživanja što je u konačnici rezultiralo i donošenjem Nitratne direktive [31].



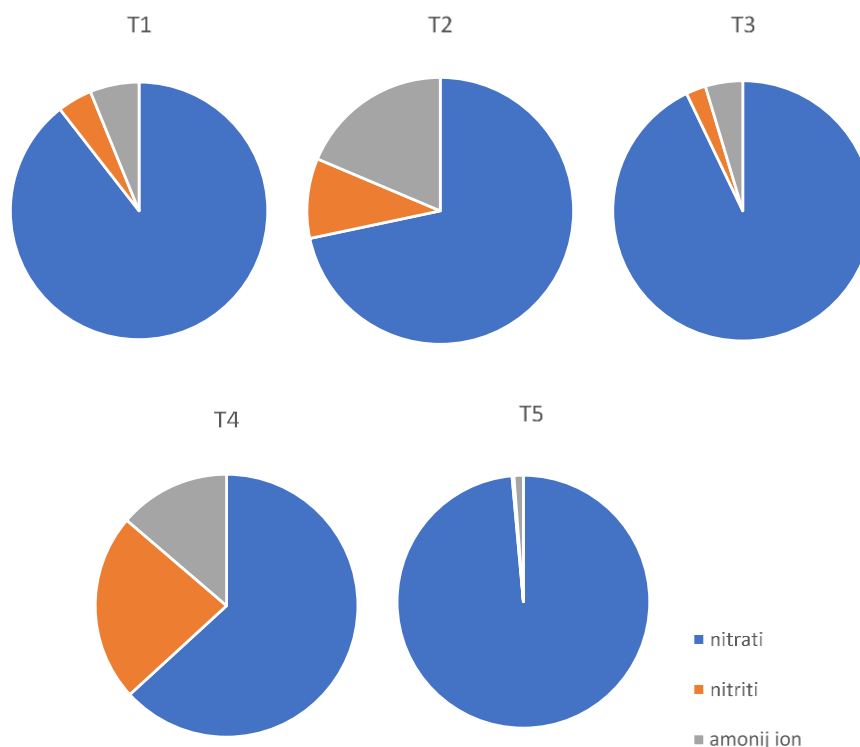
Dijagram 2: Nitrati, nitriti i amonijak u vodenom eluatu tla

Uzorak 1 sadrži niske koncentracije svih dušikovih formi, nitrata, nitrita i amonijaka kao što je vidljivo na dijagramu 2. Uzorak je uzet na livadi koja nije gnojena pilećim gnojem, no jedna od prisutnih biljnih vrsta je djetelina, biljka na čijim korjenčićima se nalaze nitrificirajuće bakterije koje joj omogućavaju korištenje elementarnog dušika iz zraka. Osim djeteline koja živi u simbiozi sa nitrificirajućim bakterijama, dušik iz atmosfere mogu vezati i slobodne živuće heterotrofne bakterije i slobodno živuće fotoautotrofne bakterije. Najpoznatiji aerobni fiksatori dušika su *Azotobacter*, *Azospirillum* i *Beijerinckia* s više vrsta [33]. Također, dušik se vraća u tlo truljenjem biljaka i životinja.

Nitrati su negativno nabijeni ioni, dobro su topivi u vodi i ne vežu se na koloidni kompleks tla. Sve to ih čini mobilnima u tlu u kojem prevladavaju negativno nabijene čestice te se lako ispiru oborinskom vodom i dospijevaju u podzemne vode. Brzina ispiranja nitrata u podzemne vode ovisi o veličini čestica tla. Budući da na istraživanom području prevladavaju lapori i siltiti (slabije propusno tla) kretanje nitrata prema podzemnim vodama je usporeno. Problem mogu predstavljati proslojci pijeska i pješčenjaka koji mjestimično povećavaju propusnost tla.

Vodeni eluat uzorka T3, koji je uzet iz vrta redovito gnojenog pilećim gnojem, sadrži najniže koncentracije nitrata, nitrita i amonijaka. Razlog tomu može biti činjenica da je uzorak uzet u trenutku intenzivne vegetacije dok biljkama za rast i razvoj trebaju znatne količine nitratnog dušika. Dušik sudjeluje u izgradnji bjelančevina te važnih sastojaka stanične jezgre i protoplazme. Preporuka agrotehničkih mjera je da se dušik unosi više puta u toku vegetacije, budući da se ne može dugo zadržati u tlu, a biljka ga konstantno treba. Ukoliko se u tlo ne unosi dušik bilo gnojivima, bilo truljenjem biljaka i životinja (npr. malčiranjem), njegova koncentracija će se s vremenom smanjiti.

U uzorcima tla T2 i T4 ima puno nitrata, nitrita i amonijaka. Uzorak T2 koji predstavlja tlo izravno ispod odlagališta gnoja na farmi, ima povišene koncentracije nitrata, nitrita i amonijaka budući da je to tlo koje je u izravnom doticaju sa velikim količinama svježeg gnoja. Kako je ovo samo privremeno odlagalište gnoja, koncentracije su ipak manje nego na lokaciji T4 gdje je gnoj odložen neprekidno proteklih 2 godine. Pod utjecajem atmosferilija, velika količina nitrata, nitrita i amonijaka dospjela je iz gnoja u tlo. U vodenom eluatu uzorka gnoja T5, izmjerene su najviše koncentracije nitrata, nitrita i amonijaka.



Dijagram 3: Sadržaj nitrata, nitrita i amonij iona u uzorcima

Na dijagramu 3 prikazan je sadržaj nitrata, nitrita i iona amonija za svaki pojedini uzorak. Vidljivo je da uzorci T2 i T4 imaju viši relativni udio amonij iona. Raspadom organske tvari, organski spojevi dušika procesom amonifikacije transformiraju se do amonijaka. Procesom nitrifikacije, oksidacijom amonijaka nastaju nitriti, a zatim i nitrati. Budući da je u uzorcima T2 i T4 organska tvar duži period bila izložen procesima amonifikacije ovakav rezultat bio je za očekivati. Amonijak je vrlo topljiv u vodi i veže se na minerale glina budući da je  $\text{NH}_4^+$  pozitivnog naboja.

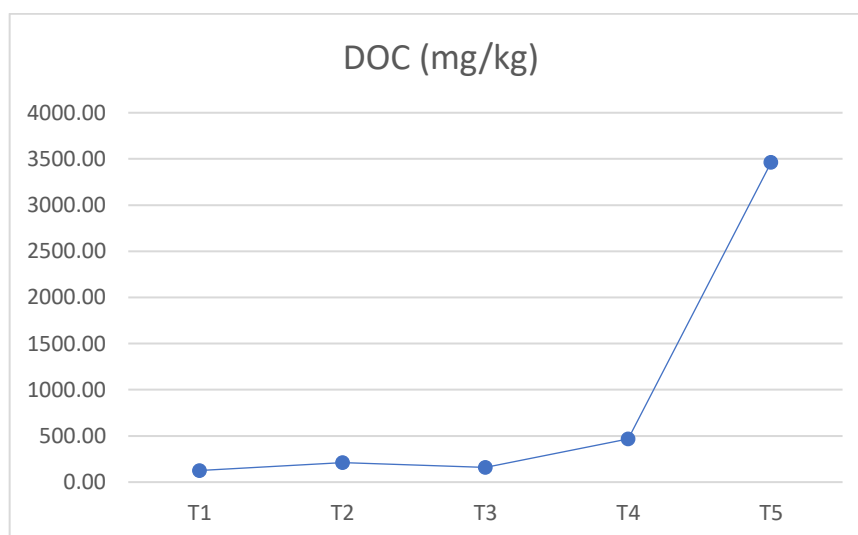
Također, vidljivo je da znatno veći udio nitrita u uzorku T4 u odnosu na ostale uzorke znači da su svi procesi kružnog ciklusa dušika u prirodi imali vremena nastupiti i da su u ravnoteži, a biljke ih ne troše. To bi značilo da su takve lokacije, ukoliko se radi o dobro propusnim naslagama, idealna mjesta za prolaz dušika do podzemne vode. Gotovo 98% dušika u uzorku T5 je u formi nitrata, što znači da je takav odležani gnoj „dozrio“ i najpogodniji je za primjenu na poljoprivrednoj površini budući da je takav dušik biljci najlakše dostupan pa može biti maksimalno iskorišten.

### 5.3. Otopljeni organski ugljik (DOC)

Pileći gnoj sadrži veliku količinu organskog ugljika čija koncentracija opada sa starenjem samog gnoja. Uz sami izmet peradi, gnoj često sadrži i ostatke stelje (piljevina) koja je teškorazgradivi materijal.

Organska tvar u tlu je smjesa huminskih i fulvo kiselina te nehuminskih komponenti koje sadrže ugljikohidrate, proteine i druge lance masnih kiselina. Huminske i fulvo kiseline imaju širok raspon funkcionalnih grupa čija sposobnost vezanja metala može itekako varirati. Utjecaj organske tvari na mobilnost metala ovisi o svojstvima organske tvari, stupnju huminifikacije, odnosu između topivih organskih kiselina male molekulske mase koje djeluju kao nosioci metala i komponenata velike molekulske mase koje zadržavaju metale. U alkalnim uvjetima organska tvar se može raspasti i metali vezani na nju postaju pokretljivi, dok se u kiselim uvjetima protonacija površine organske tvari dovodi do gubitka negativnog naboja površine i sposobnosti da se adsorbiraju kationi [30].

DOC se koristi u svrhu procjene razine onečišćenja jer su koncentracije DOC-a u tlu u vrlo dobroj korelaciji s organskim nečistoćama [24].



Dijagram 4: Vrijednosti otopljenog organskog ugljika u vodenom eluatu tla na ispitivanom području

Dobivene vrijednosti ispitivanih uzoraka kreću se u rasponu od 125,80 do 3462,5 mg/kg (Prilog 1). Najviša koncentracija DOC-a izmjerena je u uzorku čistog gnoja T5. Stajanjem koncentracija organskog ugljika u gnoju opada.[36] Prvi se razgrađuju lakorazgradivi spojevi (jednostavni šećeri, škrob, masti i proteini), a zatim sporo razgradivi kao što su celuloza i hemiceluloza [34]. Uzorak T4 ima višu koncentraciju DOC od uzorka T3 budući da je gnoj na tom mjestu duže skladišten pa je i izluživanje organske tvari duže. Uzorak uzet na livadi ima najnižu koncentraciju DOC budući da na toj lokaciji, osim raspada biljnog materijala, nema drugog načina unosa organske tvari u tlo.

## 5.5. Arsen

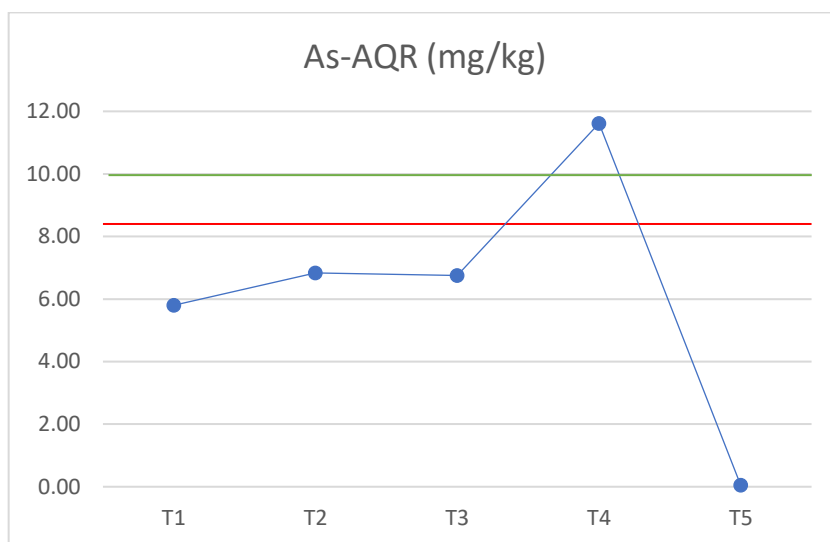
Specijacija anorganskih formi arsena, arsenita i arsenata ovisi o pH i redoks potencijalu. Dominantna kemijska forma arsena u oksidativnim uvjetima je arsenat. U laporovitim i siltoznim tlima kretanje arsena prema podzemnim vodama može djelomično usporiti vezanjem arsenata na minerale glina. U kiselom mediju, arsenat najčešće precipitira s trovalentnim kationima, kao što su aluminij i željezo, dok u alkalnim uvjetima kakvi prevladavaju na promatranom području precipitira s kalcijem i barijem. U reduktivnim uvjetima arsen tvori sulfide [30].

Selo Ključ smješteno je u graničnom području između Podravine i sjeverne Hrvatske. Prosječna vrijednost arsena u površinskom dijelu tla za Podravinu je 8,4 mg/kg, a za područje oko Ključa je 8 – 12 mg/kg [32]. Koncentracije arsena u tlima sjeverne Hrvatske se kreću u rasponu od 1,8 do 52,7 mg/kg s prosječnom vrijednosti 10 mg/kg [26].

Izmjerene koncentracije arsena dobivene nakon ekstrakcije zlatotopkom se nalaze u intervalu 5,81 mg/kg do 11,62 mg/kg u tlu i 0,05 mg/kg u gnoju (Prilog 1).

Na dijagramu 5 vidljivo je da uzorak T4 ima koncentraciju arsena višu od prosječne vrijednosti za Podravinu (crvena linija) te Sjevernu Hrvatsku (zeleno linija) prema Geokemijskom atlasu Hrvatske [32]. Razlog tomu može biti višegodišnje ispiranje arsena iz gnoja peradarske farme. U uzorcima T2 i T3 vrijednosti koncentracije arsena su nešto više nego u uzorku livade T1. To se može pripisati procesima ispiranja arsena iz tla u podzemne vode budući da je arsen u alkalnom tlu u oblicima  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  ili  $\text{HAsO}_4^{2-}$  koji su mobilni u tlima s dominantno negativno nabijenim česticama. Glavni oblik arsenita

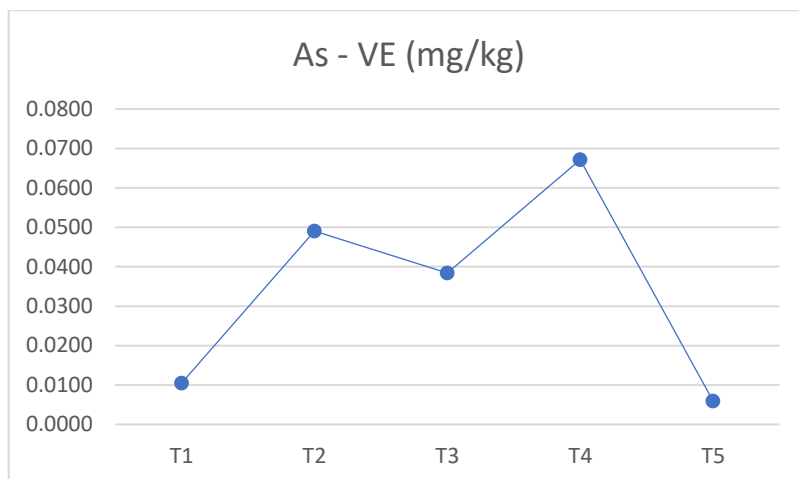
As(III) ispod pH 9,3 je  $\text{H}_3\text{AsO}_3^0$  [30]. Najniža koncentracija arsena je u uzorku pilećeg gnoja T5. Budući da se roxarson ne koristi u uzgoju pilića od 2015. godine povišene koncentracije arsena u tlu ispod starijeg gnoja mogle bi biti posljedica dugogodišnje prakse korištenja ovog opasnog spoja u peradarstvu čije se posljedice osjete i danas.



Dijagram 5: Izmjerene vrijednosti arsena u zlatotopci

Izmjerene vrijednosti arsena u vodenom eluatu predstavljaju vodotopivu frakciju tog elementa koja se najlakše i najbrže mobilizira uslijed ispiranja padalinama. Koncentracije izmjerene u vodenom eluatu tla kreću se u rasponu od 0,00593 do 0,067 mg/kg (dijagram 6). Najmanju koncentraciju arsena ima uzorak gnoja T5 što je rezultat prestanka korištenja roxarsona kao promotora rasta peradi. Uzorak T4 tlo ispod gnoja starog dvije godine ima najviše koncentracije arsena.

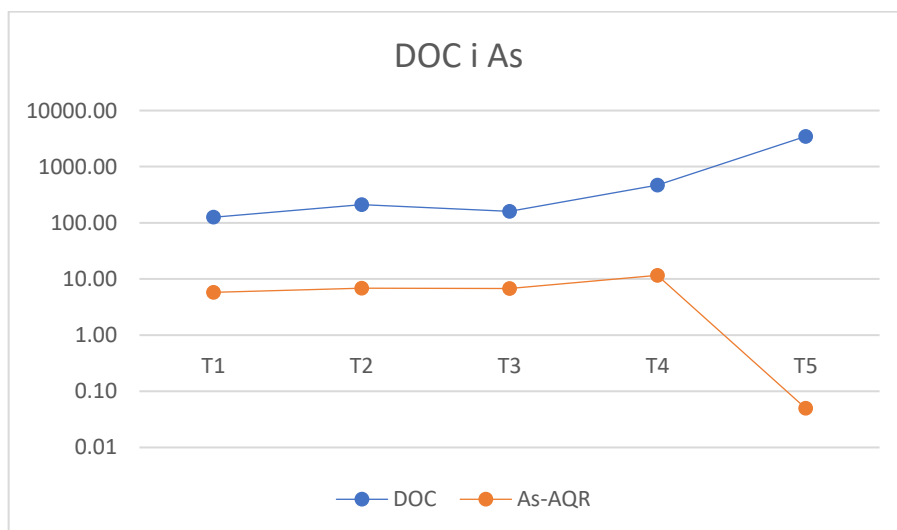




Dijagram 6: Izmjerene vrijednosti arsena u vodenom eluatu

Usporedbom koncentracija arsena dobivenog raščinjavanjem zlatotopkom i koncentracija arsena u vodenom eluatu tla vidljivo je da je samo jedan mali postotak arsena (0,18 – 0,77 %) lako mobilan. Najviše se arsena mobiliziralo iz gnoja (čak 11 %) iako su njegove koncentracije u gnoju najniže. To ide u prilog prestanku korištenja roxarsona u proizvodnji pilećeg mesa budući da se arsen iz gnoja može mobilizirati izrazito brzo, lako i u visokim koncentracijama te na taj način dospjeti u vode i tlo.

Dio arsena može se vezati i za organsku tvar, što se vidi na dijagramu 7 gdje za uzorke T1-T4 s porastom koncentracije organske tvari dolazi i do porasta koncentracije arsena.



Dijagram 7: Usporedba DOC-a i arsena po uzorcima

## 6. ZAKLJUČAK

Danas se posvećuje dosta pažnje očuvanju kvalitete tla i podzemne vode. Utjecaj poljoprivrede snažno se prepoznaje u okolišu u smislu potencijalnih onečišćenja tla i vode. Peradarska proizvodnja je značajna grana stočarske proizvodnje u Republici Hrvatskoj te se radi povećane potrebe za hranom intenzivira proizvodnja s ciljem povećanja prinosa. U Varaždinskoj županiji prevladavaju male i srednje velike peradarske farme i niži standardi pri zbrinjavanju gnoja u odnosu na velike farme. U peradarskoj industriji sve do 2015. godine u Europi se kao promotor rasta peradi koristio kemijski spoj roxarson koji sadrži arsen. Do opterećenja tla i vode dolazi iz otpadnog materijala peradarskih farmi samog po sebi, a značajnije opterećenje je ukoliko se kroz prehranu peradi dodaju dodatni štetni aditivi. U sklopu ovog diplomskog rada ispitivani su uzorci tla i pilećeg gnoja kako bi se utvrdilo opterećenje tla arsenom iz otpada peradarskih farmi. Osim koncentracije arsena, na uzorcima je mjereno pH,  $\text{pH}_{\text{KCl}}$ , DOC te koncentracije nitrata, nitrita i amonijevih iona.

Prema dobivenim rezultatima pH vidljivo je da se radi o blago alkalnom tlu. Također, ispitivanje tla pokazuje negativnu vrijednost  $\Delta\text{pH}$ , što znači da u tlu prevladavaju negativno nabijene čestice koje imaju dobar kapacitet vezivanja pozitivno nabijenih iona, u ovom slučaju amonijevih iona  $\text{NH}_4^+$ .

Dobivene koncentracije nitrata, nitrita i amonijevih iona su u skladu sa stupnjem opterećenosti otpadnim materijalom s farme. To znači da je tlo negnojeno pilećim gnojem pokazalo niske vrijednosti koncentracija dušikovih formi, dok su uzorci ispod skladištenog gnoja bogati dušikom. Najviša koncentracija DOC-a izmjerena je u T5 uzorku čistog gnoja, dok je od uzoraka tla najveću koncentraciju imao uzorak T4 uzet sa polja na kojem je gnoj skladišten dvije godine.

Koncentracije ukupnog arsena u uzorcima tla T1, T2 i T3 nalaze se unutar raspona uobičajenih koncentracija za istraživano područje prema Geokemijskom atlasu Hrvatske. Međutim, u uzorku tla T4 koncentracija arsena je znatno viša nego kod ostalih uzoraka što se može tumačiti višegodišnjim ispiranjem arsena iz peradarskog otpada. U uzorku gnoja izmjerena je vrlo niska koncentracija arsena, što potvrđuje prestanak korištenja roxarsona i drugih tvari koje koriste arsen u svom sastavu. Rezultati ovoga istraživanja pokazali su da na ovom području nije došlo do kontaminacije obradivog tla arsenom iz

otpada peradarske farme. Da se u peradarskoj industriji dalje nastavilo konzumiranje spomenutih preparata posljedice bi zasigurno bile katastrofalne, međutim u današnjoj situaciji kada su oni zabranjeni nema razloga za zabrinutost.

Važno je napomenuti da su za ovaj rad uzorci uzeti na vrlo uskom području rasprostiranja te se rezultati i zaključci odnose isključivo na ispitivano područje. Bilo bi dobro u skoroj budućnosti proširiti istraživanja i na druga područja Varaždinske županije, pogotovo na dijelove s drugačijim tipovima površinskih naslaga i drugačijim stupnjem opterećenja otpadom peradarskih farmi kako bi se mogla dobiti šira slika situacije. Svakako bi trebalo istraživanjem obuhvatiti farme starijeg datuma proizvodnje i lokacije odlagališta njihovog otpada. Tek tada moglo bi se donositi konkretnije zaključke da li je i koliko je roxarson utjecao na kvalitetu tla i podzemnih voda u Varaždinskoj županiji, a i šire.

## 7. LITERATURA

- [1] Statistički ljetopis RH 2017: Dostupno na:  
[https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/ljetopis/2017/sljh2017.pdf](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/ljetopis/2017/sljh2017.pdf). Datum pristupa: 21.6.2018.
- [2] Gospodarski list (2017): Hranidba peradi, Dostupno na:  
<http://www.gospodarski.hr/Publication/2017/2/prilog-broja-hranidba-peradi/8665#.WxQJuEiFPIU>. Datum pristupa: 21.6.2018.
- [3] Varenina I, Bilandžić N, Božić Luburić Đ, Solomun Kolanović B, Varga I, Beck R.: Rezidue kokcidostatika u proizvodima animalnog podrijetla nakon primjene u peradi, Veterinarska stanica, 2017. 48(6): 451-463
- [4] Romić D. i suradnici (2014) : Utjecaj poljoprivrede na onečišćenje površinskih i podzemnih voda u Republici Hrvatskoj, Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet Zagreb
- [5] Media Statement (2011) : Pfizer to suspend sale of 3-Nitro (Roxarsone) in the United States. Dostupno na  
:[https://www.pfizer.com/sites/default/files/news/suspending\\_sale\\_3nitro\\_060711\\_0.pdf](https://www.pfizer.com/sites/default/files/news/suspending_sale_3nitro_060711_0.pdf).  
Datum pristupa: 21.6.2018.
- [6] Pikija M, Šikić K, Trifunović S (2015): Osnovna Geološka karta Republike Hrvatske, Hrvatski geološki institut Zagreb
- [7] Periša M, Babić S. Farmaceutici u okolišu, Kem. Ind. 2016. 65 (9-10) 471–482
- [8] Uriel Arroyo-Abad, Mattusch J, Moder M, Elizalde-Gonzalez M, Wennricha R and Matysik F: Identification of roxarsone metabolites produced in the system: Soil–chlorinated water light by using HPLC-ICP-MS/ESI-MS, HPLC-ESI-MS/MS and High Resolution Mass Spectrometry (ESI-TOF-MS), J. Anal. At. Spectrom. 2011. 26:171.
- [9] O'Connor R i sur. Transformations, Air Transport, and Human Impact of Arsenic from Poultry Litter, Environmental Forensics, 6: 83-89
- [10] Shelver W.L. (2011), Generation of antibody and development of an enzyme-linked immunosorbant assay for the feed additive roxarsone, Food and Agricultural Immunology, 22(2), 171-184

- [11] Nachman K.E, Baron P.A, Raber G, Francesconi K. A, Navas-Acien A, Love D.C. (2013), Roxarsone, Inorganic Arsenic, and Other Arsenic Species in Chicken: A U.S.-Based Market Basket Sample, *Environ Health Perspect*, 121(7): 818-24.
- [12] International Agency for Research on Cancer. 2012. Arsenic and arsenic compounds. IARC Monogr Eval Carcinog Hum 100C:41–93. Dostupno na: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C-6.pdf> Datum pristupa: 25.6.2018.
- [13] Huton M., Symon C. (1986), Quantities of cadmium, lead, mercury, and arsenic entering the environment from human activities, *Sci Total Environment*, 57: 129 – 150.
- [14] Liu Y, Zhang Z, Li Y, Wen Y, Fei Y. Response of soil microbial communities to roxarsone pollution along a concentration gradient, *Journal of Environmental Science and Health*, 52(9): 819-827.
- [15] Huang L.X, Yao L.X, Huan He Z, Min Zhou C, Liang Li G, Mei Yang B, Fen Li Y. Uptake of arsenic species by turnip (*Brassica rapa* L.) and lettuce (*Lactuca sativa* L.) treated with roxarsone and its metabolites in chicken manure, *Food Additives & Contaminants*, 30(9): 1546-1555
- [16] Cohen SM, Arnold LL, Eldan M, Lewis AS, Beck BD. 2006. Methylated arsenicals: the implications of metabolism and carcinogenicity studies in rodents to human risk assessment. *Crit Rev Toxicol*. 36:99–133.
- [17] Yumei Z , Jun Y, Yujing S, Xinlun L, Chengyun H. Arsenic Accumulation in Two Vegetables Grown in Soils Amended with Arsenic-Bearing Chicken Manures, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 43(12): 1732-1742.
- [18] WHO (World Health Organization). 2001. Environmental Health Criteria 224. Arsenic and Arsenic Compounds, II edit., World Health Organization, Geneva.
- [19] Voigt D.E, Brantley S.L. (1996): Chemical fixation of arsenic in contaminated soils. *Appl Geochem.*, 11, 633–43.
- [20] Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1995), 21th edition, American Public Health Association, American WaterWorks Association, Water Environment Federation, 541 str.

- [21] Lewen N. The use of atomic spectroscopy in the pharmaceutical industry for the determination of trace elements in pharmaceuticals. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 55, 653- 661
- [22] Mutavdžić Pavlović D. (2010): Fizikalna i kemijska svojstva tla i njihovo određivanje, Interna skripta Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu, 31 str.
- [24] Avramidis P, Konstantinos N, Vlasoula B. (2015): Total Organic Carbon and Total Nitrogen in Sediments and Soils: A Comparison of the Wet Oxidation – Titration Method with the Combustion-Infrared Method, *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 4, str.425-430
- [25] Hooda S.(ur.) (2010): Trace elements in soils, John Wiley & Sons, United Kingdom, 596 str.
- [26] Miko S, Halamić J, Peh Z, Galović L. (2001): Geochemical Baseline Mapping of Soils Developed on Diverse bedrock from Two Regions in Croatia. *Geologia Croatica*, 54/1, 60 – 118
- [27] Škorić, A. (1982): Priručnik za pedološka istraživanja, Fakultet poljoprivrednih znanosti, Sveučilište u Zagrebu,
- [28] Pongratz R. 1998. Arsenic Speciation in Environmental Samples of Contaminated Soil. *Science of The Total Environment* 224: 133-141.
- [29] Madison, R. & Brunett, J. (1985): Overview of the occurrence of nitrate in ground water of the United States. *National Water Summary 1985 – Hydrologic Events, Selected Water–Quality Trends and Ground-Water Resources. Water-Supply Paper 2275*. USGS, Reston, Virginia.
- [30] Hooda, P. S.(ed.) (2010): Trace elements in soils. John Wiley & Sons, United Kingdom, 596pp.
- [31] Nitratna direktiva (1991.) Hrvatske vode Nitratna direktiva (91/676/EEC)
- [32] Halamić, J. & Miko, S. (ur.) (2009): Geokemijski atlas Republike Hrvatske. Hrvatski geološki institut, 87 str., Zagreb.

- [33] Vukadinović, V. i Vukadinović, V. (2011.): Ishrana bilja, Poljoprivredni fakultet u Osijeku
- [34] Epstein, E. (1997): The science of composting. Technomic Publishing Company. Lancaster, Pennsylvania, USA, 487p.
- [35] RHS Flower Shows 2019, Chicken manure. Dostupno na:  
<https://www.rhs.org.uk/advice/profile?PID=297> Datum pristupa: 28.8.2016.
- [36] Vukobratović, M.; Lončarić, Z.; Vukobratović, Ž.; i Dadaček, N.: Promjene kemijskih svojstava stajskih gnojiva pri kompostiranju. ISSN 1330-7142

## 8. POPIS SLIKA, TABLICA I DIJAGRAMA

### POPIS SLIKA:

Slika 1: Topografska karta županije sa naznačenim područjem istraživanja

Slika 2: Geološka karta istraživanog područja

Slika 3: Prostorni raspored farmi u RH 2012.godine

Slika 4: Struktura kemijskog spoja roxarsona

Slika 5: Prikaz koncentracija arsena na području Varaždina i okolice

Slika 6: Biološke transformacije arsena u prirodi

Slika 7: Prikaz kruženja dušika u prirodi prema Madison, R. & Brunett, J.

Slika 8: Topografska karta istraživanog područja

Slika 9: Primjer uzorkovanja tla

Slika 10: Mljevenje uzorka pomoću tarionika i tučka

Slika 11: Mješanje uzoraka orbitalnom mješalicom

Slika 12: Mjerenje uzoraka multimetrom

Slika 13: Centrifuga 322 tvrtke Tehnica

Slika 14: Filtracija eluata preko filter papira promjera pora 0,45  $\mu\text{m}$

Slika 15: TOC/TN analizator tvrtke SHIMADZU

Slika 16: Digeriranje uzorka u vodenoj kupelji

Slika 17: Profiltrirani uzorci razrijeđeni deioniziranom vodom do 50 mL

Slika 18: Atomijski emisijski spektrometar, Aanalyst 800 tvrtke PERKIN ELMER



#### POPIS TABLICA:

Tablica 1: Utjecaj pH reakcije tla na kemijske procese u tlu

Tablica 2: Klasifikacija tla prema Thunu

#### POPIS DIJAGRAMA:

Dijagram 1:  $\text{pH}_V$  i  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  vrijednosti uzoraka vodenog eluata tla

Dijagram 2: Nirati, nitriti i amonijak u vodenom eluatu tla

Dijagram 3: Sadržaj nitrata, nitrita i amonij iona u uzorcima vodenog eluata tla

Dijagram 4: Vrijednosti otopljenog organskog ugljika u vodenom eluatu tla na ispitivanom području

Dijagram 5: Izmjerene vrijednosti arsena iz tla u zlatotopci

Dijagram 6: Izmjerene vrijednosti arsena u vodenom eluatu tla

Dijagram 7: Usporedba DOC-a i arsena po uzorcima vodenog eluata tla

## PRILOG 1: Rezultati svih mjerenja

## PRILOG 1

UZORAK	pH <sub>v</sub>	pH <sub>KCl</sub>	ΔpH	NITRATI [mg/kg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - N]	NITRITI [mg/kg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> - -N]	AMONIJAK [mg/kg NH <sub>3</sub> -N]	DOC (mg/kg)	As- AQR(mg/kg)	As- VE(mg/kg)	Udio topivog arsena [%]
T1	7,53	7,29	-0,24	72,50	3,53	5,00	125,80	5,81	0,0105	0,1807
T2	7,4	6,96	- 0,044	100,00	13,50	26,00	212,18	6,84	0,0491	0,7178
T3	7,61	7,17	-0,44	65,00	1,73	3,25	160,15	6,76	0,0384	0,5680
T4	8,1	7,62	-0,48	172,50	63,00	37,50	469,00	11,62	0,0672	0,5783
T5	6,46	6,43	-0,03	4200,00	10,35	51,00	3462,50	0,05	0,00593	11,86

U prilogu 1 prikazane su vrijednosti svih mjerenja za potrebu ovog diplomskog rada.

- $\text{pH}_V$  - pH u vodenom eluatu
- $\text{pH}_{\text{KCl}}$  - pH izmjenjive kiselosti
- $\Delta\text{pH}$  - „efekt soli“
- DOC - otopljeni organski ugljik
- As-AQR - arsen u zlatotopci
- As-VE - arsen u vodenom eluatu
- Udio topivog arsena